

**В.С. Смандич, О.Є. Мандрик, О.В. Бесединська, І.А. Вівсяна**

*Кафедра внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб  
(зав. – проф. О.С. Хухліна) ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”,  
м. Чернівці*

## ОСОБЛИВОСТІ ОРГАНІЗАЦІЇ ЯДЕРНОГО ХРОМАТИНУ ЕКЗОКРИНОЦИТІВ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПАНКРЕАТИТ З НОРМАЛЬНОЮ МАСОЮ ТІЛА ТА НА ТЛІ ОЖИРІННЯ

**Резюме.** У роботі проаналізовано 43 випадки смерті хворих, що померли з різних причин, у яких в заключному клінічному та патологоанатомічному діагнозах був хронічний панкреатит. Основна група розподілена на дві підгрупи. Так, першу підгрупу основної групи становили 22 випадки, у яких клінічно встановлений діагноз хронічного панкреатиту, а маса тіла була нормальною. До другої підгрупи увійшов 21 випадок хворих на хронічний панкреатит та ожиріння. З джерел літератури, функціональний стан ядра має відображення в характері та розподілі хроматина. Так, в зовнішніх відділах диплоїдних ядер нормальних тканин знаходять конденсований (компактний) хроматин – гетерохроматин, а в решті її відділів – неконденсований хроматин – еухроматин. Гетерохроматин та еухроматин відображають різні функціональні стани ядра; перший з них вважають неактивним, другий – досить активним та таким, що відображає участь ядра у різних метаболічних непроліферативних та проліферативних процесах. При аналізі цифрових даних виявлено, що у першій підгрупі основної групи дослідження коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину достовірно вищий ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою порівняння. В результаті нашої роботи доведено, що коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину екзокриноцитів підшлункової залози вірогідно вищий у хворих на хронічний панкреатит на тлі ожиріння порівняно з випадками з нормальною масою тіла, що засвідчує про зниження активності ядра цих клітин щодо залучення ДНК до проліферативних та непроліферативних (синтетичних) процесів та створює субстрат для розвитку дисфункції екзокриноцитів підшлункової залози.

**Ключові слова:** панкреатит, ожиріння, підшлункова залоза, ядерний хроматин.

Останнім часом у клінічній практиці спостерігається істотне зростання частоти захворювання на ожиріння та асоційовані захворювання печінки та підшлункової залози (ПЗ) [1-4]. Соціальна значимість зростання захворюваності на ожиріння полягає у тому, що воно є найістотнішим компонентом метаболічного синдрому і фактором ризику розвитку судинних та різноманітних дисметаболічних ускладнень [2-6].

Серед ускладнень ожиріння істотне місце займає формування жирової хвороби печінки (ЖХП) та хронічний панкреатит (ХП), виникнення яких суттєво знижує якість життя хворих, сприяє розвитку порушення толерантності до глюкози, істотних розладів ліпідного обміну [2, 5, 7, 8]. ХП у хворих на ожиріння виникає, за даними різних авторів, від 45% до 80% випадків [8]. Увагу дослідників привертає той факт, що у світі

невпинно зростає частота патології панкреато-біліарної системи, зокрема ХП [7-9]. Водночас, згідно зі світовими статистичними даними, частка ХП у структурі захворюваності органів травлення становить від 5,1 до 9%, а в загальній клінічній практиці – від 0,2 до 0,6% [7, 10].

В основі ХП лежать ті ж неспецифічні процеси, що й у будь-якому запаленні. Тобто реалізуються загальнобіологічні механізми клітинної адаптації, які в подальшому й забезпечують системні впливи на інші органи. У гострій фазі запалення в його епіцентр масивно мігрують лейкоцити та інші імунокомпетентні клітини, які дають старт каскадам системних біохімічних та імунологічних реакцій. На сьогоднішній день доведено, що нейтрофіли, лейкоцити та тромбоцити є найпотужнішими донорами аніону  $O_2$  та інших вільних супероксидрадикалів [11]. Такі активні спо-

луки ініціюють перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) та окислювальну модифікацію білків (ОМБ) у реакціях респіраторного вибуху. Це, в свою чергу, є універсальним механізмом пошкодження клітин, частіше за все шляхом апоптозу. Підвищена активність ПОЛ і ОМБ призводить до збільшення кількості модифікованих ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), які є фактором перетворення макрофагів на тучні клітини. Інтенсифікація вільнорадикального окислення ліпідів (ВРОЛ) підтримує таким чином локальний запальний процес, сприяє порушенню мікроциркуляції та обмінних процесів у ПЗ, пригніченню тканинного дихання, що, в свою чергу, призводить до дегенерації ацинарних клітин, їх апоптозу. Проте первинні локальні пошкодження в подальшому запускають далеко не локальні процеси за рахунок ключових факторів хемотаксису та медіаторів запалення. Крім того, ПОЛ індукує спонтанний гідроліз панкреатичних білків з утворенням нерозчинних протеїново-кальцієвих асоціацій. Важливу роль у підтримці ПОЛ та ОМБ на високому рівні має декомпенсація клітинних механізмів адаптації. Виявлено, що загострення ХП супроводжуються пошкодженням глутатіонової редокс-системи — основної антирадикальної системи організму. Виснаження цієї системи швидко призводить до поліоксидантної недостатності на системному рівні. Отже, активація ПОЛ, депресія антиоксидантного захисту (АОЗ), яка, в свою чергу, призводить до ферментно-інгібіторного дисбалансу, включається до «вадного кола» (першого порядку). Як уже зазначалося, вільні радикали здійснюють прямий пошкоджуючий вплив на ацинарну тканину, ендотелій та імунокомпетентні клітини, що сприяє дисфункції названих структур. Окрім того, під дією цього пошкоджуючого фактора, ендотеліоцити, тромбоцити, тучні клітини, нейтрофіли починають інтенсивну продукцію факторів хемотаксису та медіаторів запалення, найбільший інтерес серед яких викликають цитокіни, що мають поширений системний вплив (рис. 1). До цитокінів із прозапальною дією належать інтерлейкіни 1, 6, 8 (IL-1, 6, 8), туморнекротизуючий фактор  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), фактор агрегації тромбоцитів (PAF). Уже на цьому етапі цитокіни забезпечують індукцію апоптозу ацинарних та імунокомпетентних клітин, а також міграцію лейкоцитів у вогнище; більше того, запускають імунологічні реакції сповільненого типу. Апоптозовані клітини пе-ретравлюються макрофагами, а їхні протеази виходять у кров. Активовані ензими

знову пошкоджують ендотелій судин, нейтрофіли та тромбоцити, відбувається індукція ПОЛ та ВРОЛ, формується суперрадикальна реакція. Знову відбувається вивільнення цитокінів. Таким чином замикається ще одне «вадне коло», уже другого порядку, реалізоване опосередкованими цитокіновими механізмами. Підсумовуючи аналіз першої ланки патогенезу, відзначимо, що дисбаланс медіаторів у бік прозапальних сполук збільшує ризик виникнення системних ускладнень та розвиток поліорганної недостатності.

На цьому системні порушення не закінчуються. У подальшому розвиваються порушення в системі гемостазу та мікроциркуляції (рис. 2). На етапі деструкції ацинуса відбувається викид у кров протеаз із подальшою їхньою активацією. Ці речовини впливають як на клітинний, так і на ферментативний гемостаз. Перший активується шляхом прямої пошкоджуючої дії на ендотелій та формені елементи крові, під час чого посилюються їх агрегаційні властивості. Крім того, порушується вазодилатуюча функція ендотелія (шляхом інгібіції продукції NO), що обтяжує порушення гемостазу. Викид серинових протеаз призводить до активації згортальної системи крові, наслідком чого є підвищене споживання антитромбіну III [4]. Поряд із цим відбувається підвищення активності інгібітора тканинного активатора плазміногену, порушення його синтезу ПЗ. Виникає зниження загальної фібринолітичної активності плазми за рахунок ферментативного компонента. Депресія ферментативного фібринолізу сприяє утворенню мікроскопічних тромбоцитарних і фібринових згустків у системі гемомікроциркуляції. Це призводить до порушення проникності клітинних мембран, деструкції ацинарних клітин та викиду панкреатичних ферментів у системний кровообіг, що посилює пошкодження, замикаючи «вадне коло». Отже, мікротромбоз мікроциркуляторного русла відбувається й на системному рівні, уражуючи, в першу чергу, паренхіматозні органи. Депресія ферментативного фібринолізу є одним із факторів, що при повторних загостреннях сприяє склеротизації та фібротизації паренхіматозних органів.

Крім того, активація протеолізу, а точніше, дисбаланс протеолітичної та інгібіторної систем, створює умови для збільшення в'язкості пристінкового шару плазми в мікросудинах та підвищення в плазмі концентрації факторів, що посилюють агрегацію формених елементів крові. Важливу роль у виникненні внутрішньосудинної агре-



ришу підгрупу основної групи становили 22 випадки, у яких клінічно встановлений діагноз хронічного панкреатиту, а маса тіла була нормальною. До другої підгрупи увійшов 21 випадок хворих на хронічний панкреатит та ожиріння. Діагноз ожиріння та його ступінь визначали за показником індексу маси тіла (ІМТ), який обчислювали за формулою Кетле:  $ІМТ = \text{маса тіла (кг)} / \text{квадрат зросту (м)}$ . За ожиріння I ступеня вважали показник ІМТ від 30 до 34,9  $\text{кг}/\text{м}^2$ . Групу порівняння представили 20 осіб без патології панкреато-дуоденальної системи та ожиріння. Вивчалась первинна медична облікова документація: медичні карти стаціонарного хворого (ф. № 003/о) та протоколи патологоанатомічних досліджень (ф. № 103/о). Забір автопсійного матеріалу (груп порівняння та основної) проводився на базі ОКМУ “Патологоанатомічне бюро”, м Чернівці за 2015-2016 рр. з урахуванням “Закону України про поховання та похоронну справу із змінами, внесеними відповідно до Закону № 2246-IV від 16.02.2004, ВВР, 2005, № 4, ст. 105”.

Обов'язковим критерієм вибору матеріалу був час від моменту настання смерті до проведення автопсії (не більше 5-6 год). Матеріал (тканина підшлункової залози) фіксували 48 годин у 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну, зневоднювали у висхідній батареї спиртів та проводили парафінову заливку при температурі  $54^{\circ}\text{C}$ . На санному мікроскопі МС-2 робили серійні гістологічні зрізи товщиною 5  $\mu\text{м}$ . Для візуалізації та кількісної оцінки ядерного хроматину використаний спосіб забарвлення залізним гематоксилином за Гейденгайном [11-14]. При виконанні гістологічних досліджень використовували мікроскоп біологічний DeltaOpticalEvolution 300 TrinoPlanLED; збільшення  $\times 40$ ,  $\times 100$ ,  $\times 400$ ,  $\times 600$ ,  $\times 1000$  (окуляр  $\times 10$ ; об'єктив  $\times 4$ ,  $\times 10$ ,  $\times 40$ ,  $\times 60$ ,  $\times 100$ ). Запис цифрових копій оптичного зобра-

ження проводили у форматі RAW (прямі показники матриці фотокамери). Отриману цифрову копію оптичного зображення аналізували у середовищі комп'ютерної програми ImageJ (1.48v, вільна ліцензія, W.Rasband, NationalInstituteofHealth, USA, 2015) [15, 16]. Обчислення коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення ядра (вираженого у відсотках) здійснювали шляхом ділення величини середньоквадратичного відхилення оптичної щільності забарвлення на середню арифметичну оптичної щільності забарвлення із множенням на 100.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Згідно з даними літератури [17], функціональний стан ядра має відображення в характері та розподілі хроматина. Так, в зовнішніх відділах диплоїдних ядер нормальних тканин знаходять конденсований (компактний) хроматин – гетерохроматин, а в решті її відділів – неконденсований хроматин – еухроматин. Гетерохроматин та еухроматин відображають різні функціональні стани ядра; перший з них вважають неактивним, другий – досить активним та таким, що відображає участь ядра у різних метаболічних непроліферативних та проліферативних процесах. Оскільки ядро може переходити із стану відносного функціонального спокою на стан функціональної активності і навпаки, морфологічна картина розподілу хроматину, представлена гетеро- та еухроматином, не може бути статичною. Можлива гетерохроматинізація та еухроматинізація ядер. Для оцінки ступеня організації ядерного хроматину екзокриноцитів ПЗ ми використовували показник коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення ядра (таблиця).

При аналізі цифрових даних виявлено, що у першій підгрупі основної групи дослідження коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину достовірно вищий ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою порівняння. У другій підгрупі основної

Таблиця

**Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину екзокриноцитів підшлункової залози у групі порівняння та основній (M±m), %**

Показник	Групи дослідження		
	Група порівняння (n=20)	Основна група	
		Підгрупа I (n=22)	Підгрупа II (n=21)
Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину	6,3±0,31	22,1±2,43*	31,2±3,28**

Примітка: \*Достовірно порівняно з групою порівняння при  $p < 0,05$ ; \*\* достовірно порівняно з підгрупою I при  $p < 0,05$

групи показник коефіцієнта варіації оптичної густини ядерного хроматину екзокриноцитів підшлункової залози був вищий 1.41 раза у порівняно з першою підгрупою основної групи, що вказує на порушення балансу між еу- та гетерохроматином за рахунок збільшення вмісту останнього, що засвідчує зниження активності ядра цих клітин щодо залучення ДНК до проліферативних та непроліферативних (синтетичних) процесів та є субстратом для розвитку дисфункції екзокриноцитів. Функціональна активність екзокриноцитів підшлункової залози має особливе значення, адже пов'язані з безпосереднім забезпеченням процесів травлення та подальшого всмоктування простих речовин.

**Висновок.** Отже, коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину екзокриноцитів підшлункової залози вірогідно вищий у хворих на хронічний панкреатит на тлі ожиріння порівняно з випадками з нормальною масою тіла, що засвідчує про зниження активності ядра цих клітин щодо залучення ДНК до проліферативних та непроліферативних (синтетичних) процесів та створює субстрат для розвитку дисфункції екзокриноцитів підшлункової залози.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідити організацію ядерного хроматину екзокриноцитів підшлункової залози у хворих на цукровий діабет.

### Список використаної літератури

1. Бондаренко О.А. Клиническая диагностика хронического панкреатита в сочетании с ожирением / О.А. Бондаренко // Укр. терапевт. ж. – 2012. – № 3-4. – С. 35-39.
2. Москаль О.М. Стан процесів травлення та рівень інтерлейкінів при хронічному панкреатиті, поєднаному з ішемічною хворобою серця / О.М. Москаль, Т.В. Мишанич, Е.Й. Архій // Inter. Medical J. – 2014. – Вип. 1(1). – С. 25-27.
3. Ожиріння в практиці кардіолога та ендокринолога / О.М. Біловол, О.М. Ковальова, С.С. Попова, О.Б. Тверетінов. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2009. – 620 с.
4. Шулуток Б.И. Тубулоинтерстициальные воспалительные заболевания почек / Б.И. Шулуток, С.В. Макаренко // Нефролог. – 2004. – Т. 8, № 1. – С. 89-97.
5. Самсонова Н.Г. Генетические механизмы абдоминального ожирения / Н.Г. Самсонова // Эксперимент. и клин. гастроэнтеролог. – 2007. – № 1. – С. 34-38.
6. Фадеенко Г.Д. Роль ожирения как компонента метаболического синдрома в возникновении и прогрессировании неалкогольной жировой болезни печени / Г.Д. Фадеенко, К.А. Просоленко, Е.В. Колесникова // Сучасна гастроентеролог. – 2008. – № 2. – С. 4-10.
7. Архій Е.Й. Хронічний панкреатит, поєднаний з ішемічною хворобою серця: особливості процесів травлення та інтерлейкінового статусу / Е.Й. Архій, О.М. Москаль, Т.В. Мишанич // Наук. вісн. Ужгородського ун-ту. – 2014. – Вип. 1(49). – С. 24-27.
8. Звягинцева Т.Д. L-карнитин и оксидативный стресс – стресс при неалкогольном стеатогепатите / Т.Д. Звягинцева, С.В. Глуценко // Расширяя границы: 41-я научная сессия ЦНИИГ. – 2015. – С. 19-20.
9. Ogden C. The epidemiology of obesity / C. Ogden, S. Yanovski, M. Carrol // Gastroenterol. – 2007. – Vol. 132. – P. 2087-2102.
10. Хухліна О.С. Особливості патогенезу взаємообтяження хронічного обструктивного захворювання легень, хронічного панкреатиту за їх коморбідного перебігу / О.С. Хухліна, О.С. Восвідка, О.О. Урсул // Здобутки клін. та експеримент. мед. – 2014. – № 1(20). – С. 129-132.
11. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии: руководство / [под ред. Д.Э. Коржеского]. – СПб.: СпецЛит, 2013. – 127 с.
12. Багрій М.М. Методики морфологічних досліджень / М.М. Багрій, В.А. Діброва. – Вінниця: Нова книга, 2016. – 328 с.
13. Основы обеспечения качества в гистологической лабораторной технике / [под ред. П.Г. Милькова, Г.А. Франка]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 176 с.
14. Pancreatic enzyme supplements are not effective for relieving abdominal pain in patients with chronic pancreatitis: meta-analysis and systematic review of randomized control edtrials / M. Yaghoobi, J. McNabb-Baltar, R. Bijarchi, P.B. Cotton // Can. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2016. – Vol. 4.-doi: 10.1155/2016/8541839.
15. Конюхов А.Л. Руководство к использованию программного комплекса ImageJ для обработки изображений: учебное пособие / А.Л. Конюхов. – Томск: Кафедра телевидения и управления, Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники, 2012. – С. 96-103.
16. Suvarna S.K. Bancroft's theory and practice of histological techniques / S.K. Suvarna, C. Layton, J.D. Bancroft. – 7-th edit. – UK :ChurchillLivingstone Elsevier, 2013. – 604 p.
17. Общая патология человека: руководство для врачей: в 2 т. / [под ред. А.И. Струкова, В.В. Серова, Д.С. Саркисова]. – [2-е изд.]. – М.: Медицина, 1990.– Т. 1. – С. 44-45.

## ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДЕРНОГО ХРОМАТИНА ЭКЗОКРИНОЦИТЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ С НОРМАЛЬНОЙ МАССОЙ ТЕЛА И НА ФОНЕ ОЖИРЕНИЕ

**Резюме.** В работе проанализированы 43 случая смерти больных, умерших от различных причин, у которых в заключительном клиническом и патологоанатомическом диагнозах фигурировал хронический панкреатит. Основная группа была разделена на две подгруппы. Так, первую подгруппу основной группы составили 22 случая, в которых клинически установлен диагноз хронического панкреатита, а масса тела была нормальной. Ко второй подгруппе относился 21 случай больных хроническим панкреатитом и ожирением. Из источников данных литературы, функциональное состояние ядра находит отражение в характере и распределении хроматина. Так, в наружных отделах диплоидных ядер нормальных тканей находят конденсированный (компактный) хроматин – гетерохроматин, а в конце отделов – неконденсированный хроматин – эухроматин. Гетерохроматин и эухроматин отражают различные функциональные состояния ядра; первый из них считают неактивным, второй – достаточно активным и таковым, что отображает участие ядра в различных метаболических непролиферативных и пролиферативных процессах. При анализе цифровых данных выявлено, что в первой подгруппе основной группы исследования коэффициент вариации оптической плотности ядерного хроматина достоверно выше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой сравнения. В результате нашей работы доказано, что коэффициент вариации оптической плотности ядерного хроматина экзокриноцитов поджелудочной железы достоверно выше у больных хроническим панкреатитом на фоне ожирения по сравнению со случаями с нормальной массой тела, что свидетельствует о снижении активности ядра этих клеток по вовлечению ДНК в пролиферативные и непролиферативные (синтетические) процессы и создает субстрат для развития дисфункции экзокриноцитов поджелудочной железы.

**Ключевые слова:** панкреатит, ожирение, поджелудочная железа, ядерный хроматин.

## PECULIARITIES OF ORGANIZATION OF NUCLEAR CHROMATINE OF PANCREASON EXOCINOCYTES IN PATIENTS WITH CHRONIC PANCREATITIS WITH NORMAL BODY WEIGHT AND AGAINST THE GROUND OF OBESITY

**Abstract.** 43 lethal cases of patients died due to different reasons and diagnosed with chronic pancreatitis in their final clinical and pathological findings were analyzed. The main group was divided into two subgroups. Therefore, the first group included 22 cases, with clinical diagnose of chronic pancreatitis but normal body weight. The second group of patients included 21 people who had both chronic pancreatitis and obesity. Based on the sources of our literature, functional nucleus condition is reflected in the character and distribution of chromatin. Thus, in the external parts of diploid nuclei of normal tissues we can find condensed (compact) chromatin - heterochromatin, in the rest of its parts – noncondensable chromatin – euchromatin. Heterochromatin and euchromatin reflect different functional conditions of the nucleus; the first one is considered to be inactive, the second one - enough active and such, that it indicates an integral part of the nucleus in various metabolic non-proliferative and proliferative processes. Digital analysis demonstrates that in the first subgroup of the main investigation group coefficient of variation of optical density of nuclear chromatin is significantly higher ( $p < 0,05$ ) comparing to the comparison group. As a result of our work it has been evidenced, that coefficient of variation of optical density of nuclear chromatin of pancreatic exocrinocytes is significantly higher in patients who have chronic form of pancreatitis with underlying obesity, comparing to normal body weight cases, which shows the decrease of nucleus activity of these cells in order to involve DNA into proliferative and nonproliferative (synthetic) processes and creates a substrate for the development of dysfunction of the pancreas exocrinocytes.

**Key words:** pancreatitis, obesity, pancreas, nuclear chromatin.

Higher State Educational Institution of Ukraine  
“Bukovinian State Medical University” (Chernivtsi)

Надійшла 07.02.2017 р.  
Рецензент – проф. Федів О.І. (Чернівці)